

· 基础研究 ·

分子对接法对补肾壮筋汤 治疗骨性关节炎有效成分群的研究

郑春松¹, 叶蕪芝¹, 李西海², 许惠凤², 吴广文², 刘献祥¹

(1. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福建 福州 350108;

2. 福建省中西医结合老年性疾病重点实验室, 福建 福州 350108)

摘要 目的:寻找补肾壮筋汤的有效成分群,探讨补肾壮筋汤治疗骨性关节炎的作用机制,为其临床治疗骨性关节炎及中药的现代开发提供依据。**方法:**以补肾壮筋汤的药物成分为研究对象,从中药原植物化学成分手册和北京大学中草药数据库中收集该方所含化合物,共收集到 250 个分子式。选择白细胞介素-1 β 、肿瘤坏死因子- α 、环氧合酶-2 和诱导型一氧化氮合酶为靶点,应用 Discovery Studio 2.0 软件进行分子对接计算,以 DOCKSCORE 参数值为评价指标,观察补肾壮筋汤的药物成分与靶点蛋白的匹配程度。**结果:**补肾壮筋汤中有 25 种化合物,每种能同时对 2 或 3 种靶点有抑制效应;还有 10 种化合物,每种仅对 1 种靶点有抑制效应。**结论:**补肾壮筋汤治疗骨性关节炎的药效物质基础是有效成分群,补肾壮筋汤治疗骨性关节炎具有多靶点效应。

关键词 骨关节炎 中草药 中药药理学 药理作用分子作用机制 补肾壮筋汤

Study on the active components groups of BUSHENZHUANGJIN decoction for osteoarthritis by molecular docking method ZHENG Chun-song*, YE Hong-zhi, LI Xi-hai, XU Hui-feng, WU Guang-wen, LIU Xian-xiang.

*Academy of Integrated Traditional Chinese Medicine with Western Medicine of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, Fujian, China

ABSTRACT Objective: To find out the active components of BUSHENZHUANGJIN decoction and explore its mechanism of action on osteoarthritis for the purpose of treatments of osteoarthritis in clinical and modern development of traditional Chinese medicine. **Methods:** The compounds contained in BUSHENZHUANGJIN decoction were chosen as objects of study. The molecular formulas of these compounds were collected from *Traditional Chinese medicines; molecular structures, natural sources, and applications* and Chinese Herbal Medicine Database of Beijing University. Two hundred and fifty molecular formulas were collected totally. Interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), cyclooxygenase-2 (COX-2) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) were chosen as targets. Molecular docking was processed using Discovery Studio 2.0 software. The level of matching between the ingredients of BUSHENZHUANGJIN decoction and target protein was observed according to DOCKSCORE as evaluation indicators. **Results:** Every one of 25 kinds of chemical compound contained in BUSHENZHUANGJIN decoction could produce depressive effect on 2 or 3 kinds of target protein at the same time, and every one of 10 kinds of chemical compound contained in BUSHENZHUANGJIN decoction could produce depressive effect on one kind of target protein. **Conclusion:** In the treatment of osteoarthritis, the pharmacodynamic material basis of BUSHENZHUANGJIN decoction is the active components groups, and BUSHENZHUANGJIN decoction has multi-target effect.

Key words Osteoarthritis; Drugs, Chinese herbal; Pharmacology (TCD); Molecular mechanisms of pharmacological action; BUSHENZHUANGJIN decoction

骨性关节炎 (Osteoarthritis, OA) 的主要临床表现是关节疼痛、肿胀、活动受限。近年的研究^[1-2]表明,与骨性关节炎炎性反应机制密切相关的细胞因子和酶有白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤

坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)、环氧合酶-2 (Cyclooxygenase-2, COX-2) 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等。补肾壮筋汤的原方源自于《伤科补要》,由熟地黄、当归、牛膝、山茱萸肉、茯苓、续断、杜仲、白芍、青皮和五加皮等药物组成,具有补益肝肾、强壮筋骨的功效。补肾壮筋汤能降低 OA 患者血清中的 TNF- α 和

IL-6 水平,临床疗效良好^[3]。笔者运用计算机辅助药物分子对接法寻找补肾壮筋汤的有效成分群,探讨补肾壮筋汤治疗 OA 的作用机制,为其临床治疗骨性关节炎及中药的现代开发提供依据,现总结报告如下。

1 材料与方法

1.1 运行软件 应用 Accelrys 公司的 Discovery Studio 2.0 (DS2.0) 软件。软件运行环境:DS2.0 图形工作站,Microsoft Windows XP Professional、SP2 操作系统。本研究在北京大学计算机模拟实验室完成。

1.2 分子对接方法 以补肾壮筋汤的药物成分为研究对象,从中药原植物化学成分手册^[4]和北京大学中草药数据库^[5]中收集该方所含有的化合物,共收集到 250 个分子式。在 DS2.0 软件上的 Discovery Studio Standalone 界面搭建分子模型,在 Ligand Minimization 界面选用 MMFF 力场优化。选择 IL-1β、TNF-α、COX-2 和 iNOS 为靶点,从蛋白数据库 (Protein Data Bank) 下载其三维结构 (代码分别为 1RW N、2A Z5、6COX、2O R O)。运行 Dock Ligands (LigandFit) 程序,以靶点的原配体所在区域为活性口袋,使用柔性对接,对接构象数目最大值设为 1,CFF 力场打分,蒙特卡罗采样过程中的参数使用 LigandFit 中的缺省值。

1.3 评价方法 得到 LIGSCORE、PLP、DOCKSCORE 等参数值为对接成功,以 DOCKSCORE 参数为评价指标,将对接成功化合物的 DOCKSCORE 值与原配体的 DOCKSCORE 值比较,并进行排序,比原配体 DOCKSCORE 值高的化合物与靶点蛋白的匹配度较高。

2 结果

IL-1β、TNF-α、COX-2、iNOS 与各自原配体的 DOCKSCORE 值分别为 73.863、58.398、77.949、60.915。进行比较、排序后,补肾壮筋汤中与 IL-1β、TNF-α、COX-2 和 iNOS 匹配度较高的化合物个数分别为 2、31、7、27;有 25 种化合物,每种能同时对 2 或 3 种靶点有抑制效应;有 10 种化合物,每种仅对 1 种靶点有抑制效应 (表 1)。

3 讨论

对疾病进行多靶点治疗的意义在医药学界已成共识,多靶点治疗药物已经成为药物研究的热点课题。应用药物进行多靶点治疗的情况大致可分为 2 类:一类是合并应用多种药物,不同的药物分别作用于不同的靶点产生多靶点作用;另一类是单独用药,一种药物同时作用于不同的靶点产生多靶点作用^[6]。

表 1 补肾壮筋汤有效成分的分子对接结果

补肾壮筋汤有效成分	IL-1β	TNF-α	COX-2	iNOS
葵二酸		+	+	+
氯原酸		+		+
京尼平苷酸		+		+
壬二酸		+	+	+
棕榈酸	+	+		+
13-甲基十四碳酸		+		+
肉豆蔻酸		+		+
月桂酸		+		+
咖啡酸		+	+	+
阿魏酸		+	+	+
十二碳烯酸		+		
十一烷酸		+	+	+
顺式-9-顺式-12-亚油酸	+	+		+
亚油酸		+		
辛酸		+		+
地黄苦苷		+		+
茯苓新酸 A		+		+
邻-羧酸苯正戊酮		+		
番木鳖苷 A		+		+
哈帕苷乙酸酯		+		+
茯苓新酸 B		+		
3,5-二甲氧基-4-葡萄糖氧基苯基烯丙醇		+		+
氯原酸甲酯		+		+
山茱萸苷		+		+
脱氢马钱素		+		+
五加苷 B1		+		
京尼平苷		+		+
1,4-二羟基-2,6-二甲氧基-4-O-D-葡萄糖甙		+		
马鞭草苷		+		+
赤式-二羟基脱氢二松柏醇		+		+
松柏苷		+		+
邻-羧基苯正戊酮				+
没食子酸			+	
茯苓新酸 B				+
茴香酸			+	

四气五味是中药临床应用的基础,“气”和“味”即是药物的药性和药味;气、味相同或相近的药物,功效相似;气相同、味相异的药物,则功效不同。一般来说,一种药物只有一种药性,但可以有一种或多种药味;药物的味越多,功效也就越多,其作用于机体时不同途径的靶点就越多^[7]。张伯礼等^[8]认为中药方剂包含的化学成分复杂多样,其药效成分多途径、多靶点直接或间接地作用于人体不同的病理、生理过程,从

而产生综合效应,该效应可视为中医方剂与人体 2 个复杂的系统间相互作用的结果。而且,国外很多学者也已经意识到作用于一种靶点的单分子药物(魔术子弹)不能有效地治疗复杂的疾病^[9]。近年来,联合治疗的模式在西方已开始受到关注,人们正尝试用复方用药来治疗较为复杂的疾病^[10]。因此,在中医药学理论的宏观指导下,研究中药的有效成分群,对于构建一个既能与国际接轨、又符合中医药特点的现代中药复方研究体系,具有重要的意义。

OA 又称退行性骨关节病,是骨科常见的一种慢性骨关节病。OA 的发生、发展机制与 Wnt 信号通路等相关,呈现出多靶点基因表达的特点^[11]。近年来的研究^[12-13]发现中药可能在调控 OA 的相关基因表达及表达产物上发挥多靶点作用。补肾壮筋汤中熟地黄、当归、牛膝、山茱萸肉、续断、杜仲、白芍有补益肝肾、强壮筋骨的功效,茯苓可健脾渗湿,青皮能行气疏肝,五加皮有祛风除湿、强筋骨的功效。潘浩等^[14]的实验证实了补肾壮筋汤能降低兔膝关节病血清和关节液中 NO 的浓度,抑制软骨细胞的凋亡,促进软骨细胞的增殖,对骨性关节炎有治疗作用;提示了补肾壮筋汤能通过不同途径的靶点作用于机体。本研究的结果说明补肾壮筋汤具有一种成分抑制多种蛋白的混杂药物属性及多种成分抑制多种蛋白的组合物属性,其药效物质基础是有效成分群。因此,研究补肾壮筋汤中治疗骨性关节炎的有效成分群,可为开发多靶点治疗 OA 的药物提供线索,符合中药现代化研究的趋势。

分子对接计算是把配体分子放在受体活性位点的位置,然后按照几何互补、能量互补及化学环境互补的原则实时评价配体与受体的结合程度。从原理上讲,分子对接计算考虑了受体结构的信息以及受体和药物分子之间的相互作用,比仅仅从配体结构出发的药物实验研究更具有合理性,已经成为基于结构的药物研究方法中最为重要的实验方法^[15]。近年来,该方法已经成功应用于中药小分子与疾病靶点相互作用的研究^[16]。应用分子对接技术对复方药物的有效成分群进行研究,有利于对复方药物的方药理论和治疗理论进行阐释。本文通过分子对接计算找到补肾壮筋汤中作用于 IL-1 β 、TNF- α 、COX-2 和 iNOS 靶点的活性有效成分群,在一定程度上揭示了补肾壮筋汤治疗 OA 的作用机制,证明了中药的多靶

点效应,进一步补充和完善了补肾壮筋汤的药效学研究,为阐释中药复方治疗 OA 的理论及中药的现代开发提供了依据。

4 参考文献

- [1] 谢辉晋. 骨关节炎相关细胞因子作用机制研究进展[J]. 重庆医学, 2011, 40(4): 395-398.
- [2] 王棋文, 宋德荣, 李剑勇, 等. 抗炎药物及作用机理最新研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(3): 211-214.
- [3] 张炳冉. 补肾壮筋汤对膝关节炎患者血清肿瘤坏死因子- α 与白细胞介素-6 水平的影响[J]. 中草药, 2006, 37(9): 1389-1390.
- [4] 周家驹, 谢桂荣, 严新建. 中药原植物化学成分手册[M]. 北京: 化工工业出版社, 2004: 1165-1211.
- [5] Qiao X, Hou T, Zhang W, et al. A 3D structure database of components from Chinese traditional medicinal herbs[J]. J Chem Inf Comput Sci, 2002, 42(3): 481-489.
- [6] 楚世峰, 张均田. 人参皂苷 Rg1 的多靶点作用和机制分析[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(5): 11-15.
- [7] 刘丽宁. 传统中药临床用药优势之一多靶点探讨[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 745-746.
- [8] 张伯礼, 高秀梅. 复方丹参方的现代研究——组分配伍研制现代中药的理论与实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 5-6.
- [9] Frantz S. Drug discovery: playing dirty[J]. Nature, 2005, 437(7061): 942-943.
- [10] Keith CT, Borisy AA, Stockwell BR. Multicomponent therapeutics for networked system[J]. Nat Rev Drug Discovery, 2005, 4(1): 71-78.
- [11] 岳振双, 辛大伟, 戚记伟, 等. Wnt 信号通路骨性关节炎关系的研究进展[J]. 中医正骨, 2010, 22(10): 32-35.
- [12] 王珍, 李鑫. 中药复方治疗骨性关节炎的实验研究进展[J]. 中南药学, 2007, 5(6): 539-541.
- [13] 孙霞, 于晓佳, 邱明丰, 等. 青风藤药理与临床研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2005, 11(4): 363-364.
- [14] 潘浩, 李雄, 边红光. 补肾壮筋汤对实验性骨关节病 NO 和软骨细胞凋亡的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2005, 11(3): 238-243.
- [15] 徐筱杰, 侯廷军, 乔学斌. 计算机辅助药物分子设计[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 325-350.
- [16] 郑春松, 徐筱杰, 刘献祥, 等. 精制透骨消痛颗粒防治骨性关节炎的计算机药理学[J]. 物理化学学报, 2010, 26(3): 775-782.